



中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE  
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS  
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，  
其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this  
office of the application as originally filed which is identified hereunder：

申 請 日：西元 2002 年 12 月 23 日  
Application Date

申 請 案 號：091137060  
Application No.

申 請 人：財團法人工業技術研究院  
Applicant(s)

局 長  
Director General

蔡 練 生

發文日期：西元 2003 年 2 月 10 日  
Issue Date

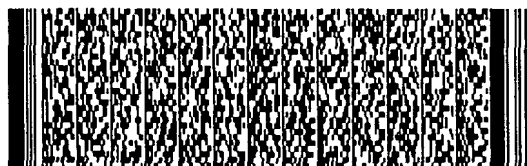
發文字號：09220104150  
Serial No.

申請日期：	IPC分類
申請案號：	

(以上各欄由本局填註)

# 發明專利說明書

一、 發明名稱	中 文	多層次組織培養方法及其載體
	英 文	METHOD AND CARRIER FOR CULTURING MULTI-LAYER TISSUE IN VITRO
二、 發明人 (共3人)	姓 名 (中文)	1. 廖俊仁 2. 林玉如
	姓 名 (英文)	1. Chun-Jen Liao 2. Yu-Ju Lin
	國 籍 (中英文)	1. 中華民國 TW 2. 中華民國 TW
	住居所 (中 文)	1. 新竹縣竹北市民權街17巷5號17樓之5 2. 台北縣新店市永安街83巷6號11樓
	住居所 (英 文)	1. 17FL. -5, No. 5, Lane 17, Minchiuan St., Jubei City Hsinchu, Taiwan, R.O.C. 2. 11FL., No. 6, Lane 83, Yungan St., Shindian City, Taipei, Taiwan,
三、 申請人 (共1人)	名稱或 姓 名 (中文)	1. 財團法人工業技術研究院
	名稱或 姓 名 (英文)	1. Industrial Technology Research Institute
	國 籍 (中英文)	1. 中華民國 TW
	住居所 (營業所) (中 文)	1. 新竹縣竹東鎮中興路四段195號 (本地址與前向貴局申請者不同)
	住居所 (營業所) (英 文)	1. No. 195, Sec. 4, Chung Hsin Rd., Chu Tung Town, Hsin Chu Hsien, Taiwan R.O.C.
	代 表 人 (中文)	1. 翁政義
	代 表 人 (英文)	1. Cheng-I Weng

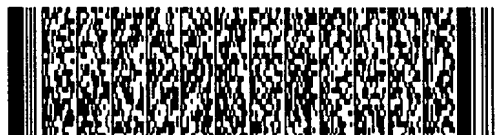


申請日期：	IPC分類
申請案號：	

(以上各欄由本局填註)

## 發明專利說明書

一、 發明名稱	中 文	
	英 文	
二、 發明人 (共3人)	姓 名 (中文)	3. 陳進富
	姓 名 (英文)	3. Chin-Fu Chen
	國 籍 (中英文)	3. 中華民國 TW
	住居所 (中 文)	3. 台北市中山區天祥路60巷25號5樓
	住居所 (英 文)	3. 5FL., No.25, Lane 60, Tianshiang Rd., Jungshan District, Taipei, Taiwan, R.O.C.
三、 申請人 (共1人)	名稱或 姓 名 (中文)	
	名稱或 姓 名 (英文)	
	國 籍 (中英文)	
	住居所 (營業所) (中 文)	
	住居所 (營業所) (英 文)	
	代表人 (中文)	
	代表人 (英文)	



四、中文發明摘要 (發明名稱：多層次組織培養方法及其載體)

本發明為一種多層次組織培養方法及其載體，係擷取少量的組織塊及細胞置入一結合空腔結構的多層次多孔隙載體中，利用此載體結構與組織塊及細胞之體積差異，將組織塊與細胞予以分層，於活體外重新建構培養，可培養出不同層次組織以提供組織修復之所需。

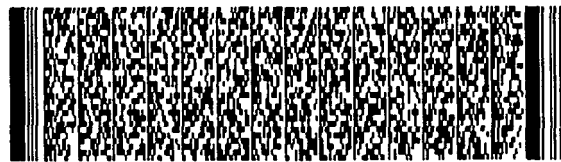
伍、(一)、本案代表圖為：第\_\_\_\_ 1 \_\_\_\_ 圖

(二)、本案代表圖之元件代表符號簡單說明：

- 1 --- 多層次多孔隙載體
- 2 --- 中空空腔
- 3 --- 多孔隙基材
- 4 --- 多孔隙結構體

陸、英文發明摘要 (發明名稱：METHOD AND CARRIER FOR CULTURING MULTI-LAYER TISSUE IN VITRO)

The present invention provides method and carrier for culturing multi-layer tissue in vitro, wherein few amounts of tissue blocks and cells are positioned within a porous multi-layer carrier consisting of a cavity structure. By taking advantage of the structure of the carrier, tissue blocks and cells are separated into different layers according to their sizes, and incubated in



四、中文發明摘要 (發明名稱：多層次組織培養方法及其載體)

陸、英文發明摘要 (發明名稱：METHOD AND CARRIER FOR CULTURING MULTI-LAYER TISSUE IN VITRO)

vitro to reconstruct a multi-layer tissue for tissue repair.



一、本案已向

國家(地區)申請專利

申請日期

案號

主張專利法第二十四條第一項優先權

二、☐主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

申請案號：

日期：

三、主張本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間

日期：

四、☐有關微生物已寄存於國外：

寄存國家：

寄存機構：

寄存日期：

寄存號碼：

☐有關微生物已寄存於國內(本局所指定之寄存機構)：

寄存機構：

寄存日期：

寄存號碼：

☐熟習該項技術者易於獲得,不須寄存。



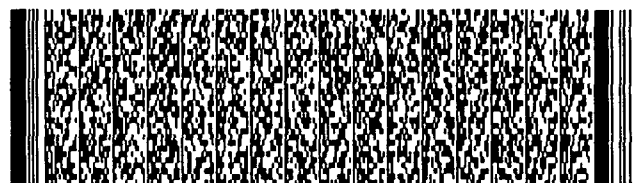
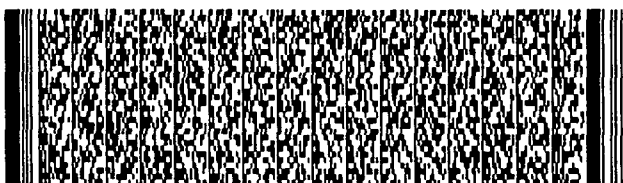
## 五、發明說明 (1)

### 【發明所屬之技術領域】

本發明為一種新的活體外培養組織的方法，利用組織塊與細胞的體積差異，於特殊的多層次多孔隙載體中分層分布，此不同層次分布的組織細胞於活體外培養時，可重新建構不同層次的組織，以突破目前相關技術無法於活體外同時培養不同層次組織的技術瓶頸。

### 【先前技術】

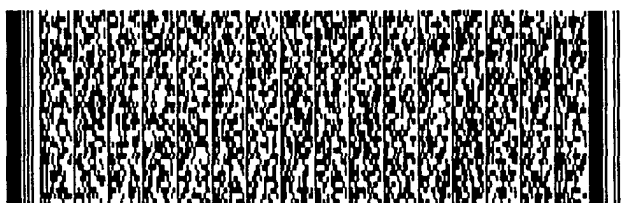
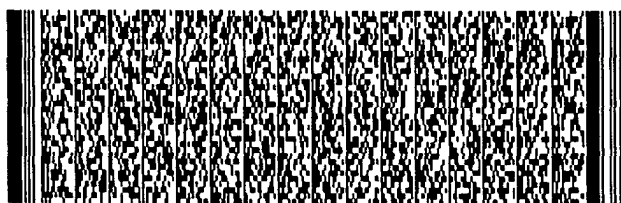
隨著高齡化人口結構的提早到來與工作或運動傷害的人口逐漸增加，關節軟骨病變疼痛問題已成為骨科臨床一個不容忽視的疾病。根據關節軟骨病變的程度可分為兩大類：局部層次缺損(partial thickness defect)及深層層次缺損(full thickness defect)，其中局部層次缺損為關節面軟骨組織的受損或剝蝕，並未到達下層的硬骨層，而深層層次缺損則為軟骨組織的受損或剝蝕已到達下層的硬骨層。隨著外科手術及關節內視鏡手術的進步，局部層次缺損的關節軟骨損傷，可由內視鏡手術及外科手術治療方式，例如：磨損關節成形術(Abrasion arthroplasty)、創傷切開法與清洗(Debridement & lavage)、高位脛骨截骨術(High tibial osteotomy)、微骨折術(Microfracturing)、鑽孔術(drilling)等技術予以治療或減輕症狀。然而如果關節軟骨創傷面積過大或深度深達下層硬骨層之深層層次缺損，一般的內視鏡手術將無法治療此類的缺損，病患只能選擇切除受損關節，置換人工關節，以解決病痛及恢復關節功能。據統計目前美國每



## 五、發明說明 (2)

年因軟骨深層次傷害，所要進行人工關節替換手術可達15萬例以上，且還逐年增加中，由於人工關節的價格高昂，開刀住院亦需花費大量的醫療成本，且以金屬為材質的人工關節植入體內，只能維持十至二十年左右的功能，年輕人需再度經歷手術的痛苦，老年病患則往往無法承受再次置換人工關節的手術，最後因而導致殘疾而不良於行，造成社會及家庭沉重的負擔。因此，開發一可治療軟骨深層層次缺損技術，為一相當重要的關鍵技術。

1995年匈牙利的外科醫師發展出馬賽克彌補法(Mosaic plasty procedure)，此為一自體移植手術技術，其利用關節內視鏡手術，將病患關節不受應力之關節面的軟骨，以環鋸鑽取一塊含有軟骨及下層接觸的硬骨圓柱狀栓塊，在受損的軟骨部位同樣以關節內視鏡以環鋸鑽取出一塊相同直徑的填補部位，其後再將先前鑽取未受損的健康軟骨栓塊，填入已鑽好孔洞的受損部位。如果受損的關節面面積較大，往往需以相同的程序，植入數個自體的軟骨栓塊，手術後的表面將如同馬賽克磁磚般，於受損的關節面重新拼湊出新的表面，此手術方法以其術後外觀為名稱之為馬賽克彌補法。此種手術方法的好處，在於移植的組織來源為病人本身的組織，因此不會發生異體或異種移植免疫排斥的問題，且其可藉由取出的兩相關節面(Biphasic joint)所包含兩層軟硬骨栓塊，直接填塞種入固定於關節面，由於其下層的硬骨層為海綿骨組織，植入缺陷部位後周圍的骨組織將長入植入組織中，其固定效果





### 五、發明說明 (3)

良好，減少固定縫合及植入組織脫落的問題。然而由於自體軟骨通常取自病患關節不受應力處，其所能取材的面積及體積相當有限，如要治療較大部位的缺陷，往往會捉襟見肘不敷使用。因此，如何以活體外培養的技術，將自體兩關節軟骨的體積予以放大，且能維持軟骨組織原有的性質，為目前研究之技術發展欲突破之瓶頸。

組織工程之目前技術開發僅侷限於單一組織之增殖培養，然而在臨床應用時，醫師所面臨要填補或修復的組織，往往為一複合的組織，如人體的關節面，即為一個相當典型的兩相複合組織。以目前組織工程的相關技術來看，主要是以病人的自體細胞，配合不同的多孔隙載體，利用此一多孔隙載體的三度空間結構，於活體外或活體內重新建構原有的組織架構。一般而言，此技術僅適用於單一均勻分布的組織，對於多層次的組織並不適用，其因乃受限於兩種不同細胞種植於多孔隙基材時，細胞的粒徑小於材料的孔徑，當細胞灑入基材內時，細胞將具有流動性，故無法如我們預期地分層成長於所需的分隔層次。因此，目前相關的開發技術，需將軟骨及硬的骨細胞分別於活體外擴大培養後，植入貼附於兩個不同的多孔隙基材中，待細胞於多孔隙基材貼附培養放大後，再將兩種組織結合，利用再融合培養的方式，讓兩相之組織細胞之介面融合。此方式不僅費時，且目前尚未有可具體應用的技術發展出來。

#### 【發明內容】

## 五、發明說明 (4)

### 一、發明概述

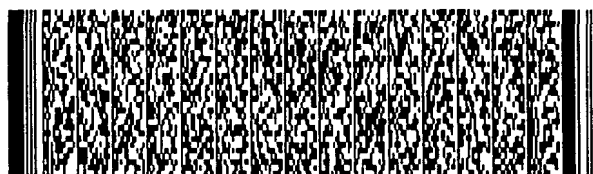
有鑒於習知技術之缺失，本發明係提供一種活體外培養多層次組織之方法，至少包括下述步驟：提供一具有空腔之多層次多孔隙載體；將組織塊置入前述載體的空腔中；植入細胞到前述載體中；及將含有組織塊與細胞之多層次多孔隙載體置於培養基中培養。

前述組織塊係經過剪碎及酵素溶解等步驟，使部分細胞自組織塊中解離出來，其粒徑較佳係為500至1000  $\mu\text{m}$ 。前述之組織塊亦可為具有細胞貼附之顆粒性載體，或細胞之聚集體。

本發明亦包括一種多層次多孔隙載體，其係可用於培養多層次的組織，其構造至少包括：一中空空腔，其四周包覆多孔隙基材，係作為填入組織塊之用；及一多孔隙結構體，其位於中空空腔下方，係提供細胞貼附之用。

前述之多層次多孔隙載體，其孔徑範圍較佳係為50至500  $\mu\text{m}$ 。前述之多層次多孔隙載體之材質較佳係為生物可吸收性材質，其係可選自下述可吸收性高分子材料之群組：聚交酯酸 (polyglycolide acid, PGA)、聚乳酸交酯酸 (polylactide acid, PLA)、聚乳酸甘醇酸 (poly(glycolide co-Lactide) acid, PLGA)、聚酞 (polyanhydrides)、聚己內酯 (polycaprolactone)、聚二噁酯 (polydioxanone) 及聚正酯 (polyorthoester)。

前述之生物可吸收性材質，亦可使用結合前述可吸收



## 五、發明說明 (5)

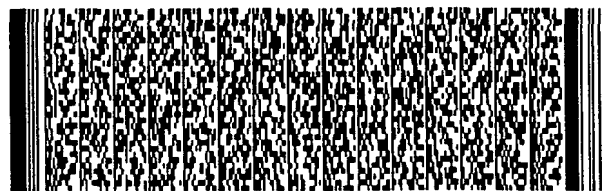
性高分子材料與其他材料之複合材料。前述之其他材料其係可選自下述群組：氫氧基磷灰石、三鈣磷酸鹽、四鈣磷酸鹽、無水磷酸氫鈣 ( $\text{CaHPO}_4$ )、含水磷酸氫鈣 ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )、八鈣磷酸鹽、焦磷酸鈣 ( $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ )、膠原蛋白、明膠 (gelatin)、透明質酸、幾丁質、聚乙二醇 (Poly(ethylene glycol))。

本發明亦可進一步包括一種多層次植入材，係利用前述多層次組織之培養方法而製得。前述之多層次植入材較佳係為骨組織植入材。

## 二、發明詳細說明

如第一圖所示，本發明開發之一種多層次多孔隙載體1，其載體之上層為一中空空腔2，其四周包覆具生物可分解性之多孔隙基材3，係作為填入組織塊之用；及一多孔隙結構體4，其位於中空空腔2下方，係提供細胞貼附之用。多孔隙結構體4之材質係為模擬人體硬骨層之生物可分解性高分子與生醫陶瓷粉末之複合材質。

本發明提供之多層次組織培養之方法，即是利用前述之多層次多孔隙載體1，將軟骨組織塊注射於前述之空腔2中，由於空腔2四周包覆的的多孔隙基材3其孔徑小於軟骨組織塊，故軟骨組織塊可被集中於此一空腔2中，此時再均勻灑入經活體外擴大培養後的自體骨髓間葉細胞於整個多層次多孔隙載體1中，待骨髓間葉細胞貼附後，於活體外或活體內進行培養。由於軟骨組織塊於活體外培養時，可以原有組織的型態增生融合，當軟骨組織擴散生長時，



## 五、發明說明 (6)

將延伸進入下層的模擬硬骨層之多孔隙結構體4，而下層較遠離軟骨層的高分子/陶瓷複合多孔隙結構體4則貼附並成長一層骨髓間葉細胞。此複合層次的組織細胞與材料經活體外培養後，將形成如同馬賽克彌補法取自關節軟骨之兩層不同特性關節層。未來只要取出少量的自體軟骨及抽取病患的骨髓，經本發明設計之多層次多孔隙載體1分相融合並放大培養，即可得到多量可供使用的自體活體外組織工程培養組織，可於移植手術中作為多層次骨植入材，以及解決大面積及深層關節軟骨的病變問題。

以下係藉由數個實施例來闡述本發明之多層次組織培養方法的實施方式與實施功效，然本發明之範圍並不侷限於下述較佳實施例，而應以申請專利範圍所界定之範圍為基準。因此任何熟知此項技藝者，在不脫離本發明之申請專利範圍與精神下，當可做適度潤飾與修改。

### 【實施方式】

#### 實施例一：多層次多孔隙載體之材料

本實施例所選用的生物可分解性高分子材料，為利用開環聚合方式製備得到的聚乳酸-甘醇酸高分子

(Poly(glycolide co-Lactide), PLGA)，其分子量根據凝膠滲透層析法 (gel permeation chromatography) 測定為580,000，與PLGA混摻之生醫陶瓷粉末為氫氧基磷灰石(hydroxyapatite, HAP)，添加入基材中創造孔洞結構的水溶性材料於本實施例中選用粒徑250  $\mu\text{m}$ 左右的氯化鈉顆粒，溶解高分子顆粒的有機溶劑係選用丙酮

## 五、發明說明 (7)

(acetone)。

### 實施例二：多層次多孔隙載體之製備方法

上層空腔外圍之多孔隙基材：

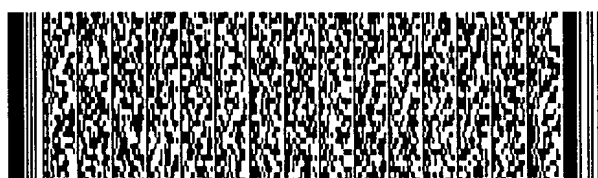
將2g的PLGA高分子材料均勻溶於40mL丙酮中，將8g氯化鈉(NaCl)加入此高分子溶液中以PLGA/氯化鈉20/80wt%的比例混合，再倒入一10cm見方，高0.5cm的鐵氟龍模具中，於抽氣櫃中以自然揮發的方式將有機溶劑抽乾，取出含氯化鈉顆粒之PLGA薄膜(膜厚為0.8mm)，將薄膜剪裁一直徑7mm的圓片，及長度22mm寬度5mm的長條薄片。

下層多孔隙結構體：

將塊狀的PLGA高分子材料均勻溶於丙酮中，以PLGA/HAP 50/50 wt%的比例將HAP混摻入此高分子溶液中，將此黏稠的高分子與陶瓷混合物，倒入鐵氟龍模具中，於抽氣櫃中以自然揮發的方式將有機溶劑抽乾，將塊狀的PLGA/HAP複合材料於粉碎機中粉碎後，讓粉碎的顆粒通過40-60孔目的篩網過篩，便可得到粒徑在250-400  $\mu\text{m}$ 的顆粒。將PLGA/HAP複合材料顆粒與氯化鈉顆粒依20/80的重量比，予以乾混攪拌的方式均勻混合之。

多層次多孔隙載體的製造：

上述材料依序將含氯化鈉顆粒之PLGA圓片薄膜，置入一下端接有抽氣裝置直徑為7mm圓形的鐵氟龍過濾模器底部，再將長片狀PLGA薄膜，環繞於底部圓片外圍，呈一圓形凹槽，此凹槽填入0.07g氯化鈉顆粒，並壓實壓平，其



## 五、發明說明 (8)

後再填入0.5g PLGA/HAP複合材料與氯化鈉混合顆粒並壓實之，此時將有機溶劑丙酮倒入模具中，並浸潤之，其後打開抽氣閥產生一負壓向下抽去多餘的溶劑，並使表面已溶化的高分子相互黏結。整體結構相互黏結後，於過濾器上方倒入大量的去離子水，同時並打開抽氣閥抽氣，將大量的水通過材料中，析出並固化高分子，同時將其內部的氯化鈉顆粒水洗出來。固化後的基材自過濾器中取出，製於裝有去離子水的大燒杯中，於室溫下每六小時換水一次，以攪拌的方式浸泡水洗一天，將內部殘留的溶劑及鹽粒洗出，再置於50℃的真空烘箱加熱乾燥一天，即可得到一上層含有空腔的複合多層次多孔隙載體。多層次多孔隙載體製備後，以75%的酒精浸泡消毒6小時，並以大量的無菌的磷酸生理緩衝液(phosphate buffered saline, PBS)溶液置換內含消毒的酒精。

結果：

以本專利方法製備的多層次多孔隙載體之外觀如第二(a)圖所示，其剖面結構如第二(b)圖所示，可以看見材料上方含有一1mm厚度之空腔(如白色箭頭所示)。

### 實施例三：軟骨及骨髓細胞分離與培養

軟骨組織係以顯微器械取出新生一週的紐西蘭兔的大腿骨，以顯微器械去除表面的肌肉及骨膜，浸於沒有加胎牛血清(fetal calf serum, FCS)的DMEM中，於細胞培養的操作檯(laminar flow)中將大腿骨取出，置於15ml的離心管中，加入10ml的phosphate buffered saline



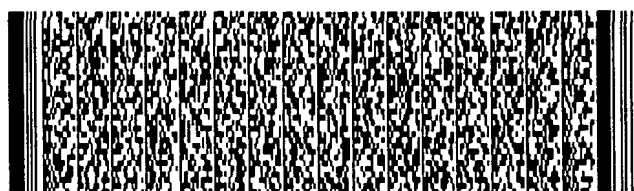
## 五、發明說明 (9)

(PBS) 予以清洗，重覆兩次。大腿骨清洗後，倒於10cm的培養皿中，以滅過菌的組織剪將關節軟骨分離並剪碎，碎片大小以20-40孔目的篩網控制在560-800  $\mu\text{m}$ 之間。剪碎的碎片以鑷子收集於15ml的離心管中，再倒入10ml的PBS沖洗，重覆三次。沖洗後的碎片，仔細地將PBS儘量吸除，再加入溶解蛋白酶 (collagenase, 1mg/ml PBS) 5ml，置於37℃的培養箱中，靜置2小時，將表面的部分軟骨細胞游離出來。以溶解蛋白酶分離溶解過後的軟骨骨塊，置於離心機中，以轉速1500r.p.m. 離心5分鐘，將溶解蛋白酶與軟骨塊加以分離。離心後的骨碎片，吸除澄清的溶解蛋白酶上清液，餘留的碎片及細胞組織以PBS沖洗兩次，離心兩次，以除去殘留的溶解蛋白酶。

兔子的骨髓細胞抽取自2kg紐西蘭兔子骨盆腔，以18號針筒含抗凝血劑於無菌操作環境下抽取3ml骨髓，置入10cm細胞培養皿中，加入6ml加胎牛血清的DMEM中，經一天貼附培養後，吸除沒有貼附的懸浮性細胞及紅血球，加入新的培養液，其後每個三天置換一次培養液，待細胞長滿後，分盤繼代培養，擴大培養至實驗所需之細胞數量。

實施例四：多層次組織細胞的培養

取0.05g的軟骨塊及組織細胞，置入含18號針頭之5cc注射針筒中，以注射的方式將軟骨塊打入多層次多孔隙載體的空腔中，其後每個載體植入106個骨髓幹細胞，為防止細胞流出，所加入的細胞溶液體積為500  $\mu\text{l}$ ，置於培養皿中，於含飽和水氣的37℃培養箱中，靜置6小時，使加



## 五、發明說明 (10)

入的細胞貼附，再置入一消毒過的不鏽鋼籃子中，懸吊於500ml的Spinner flask進行培養。依照培養的時間定期置換新鮮的培養液，培養環境為5%二氧化碳，37℃的培養箱。培養後於不同的培養時間，將材料自反應器中取出，先以PBS予以沖洗之，然後浸於4% formalin的PBS溶液中將試片加以固定，以石蠟軟組織包埋切片的方式切片，再以蘇木紫-伊紅的方法染色。

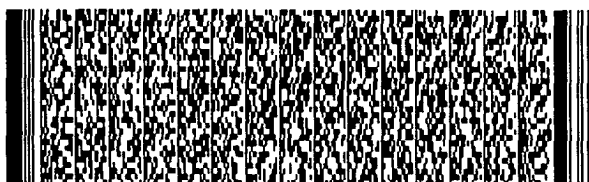
結果：

第三圖為多層次多孔隙載體經由本發明之組織培養方法培養四星期後取出時之外觀，載體經一個月的浸泡培養後，其結構保持完整，並無崩解，於此載體的上緣，可以觀察到兩層不同層次組織之界面（如箭頭所示）。

第四圖為利用本發明之培養方法培養兩星期的組織切片結果，可以見到植入載體之軟骨塊周圍，已有新生的軟骨生成（如箭頭所示），此新生的軟骨細胞維持其原本之較圓的細胞型態，且外圍已分泌包覆細胞間質，此新生軟骨逐漸融合原有組織塊，並向周圍下方PLGA/HAP多孔隙結構體之孔洞生長。

第五圖為空腔下層PLGA/HAP均勻的多孔隙結構體同時植入骨髓間葉細胞，培養二星期的組織切片觀察結果，可觀察到材料內部已貼附一層的骨髓間葉細胞（如箭頭所示）。

第六(a)圖為以本專利培養方法培養四星期的組織切片結果，可以觀察到多層次多孔隙載體的空腔內部的軟骨



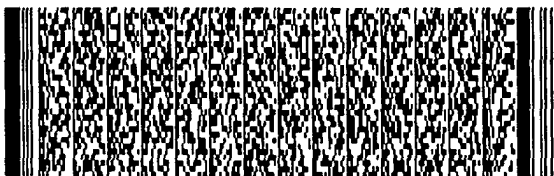


## 五、發明說明 (11)

組織已生長融合成一體，以比例尺量測其尺徑，寬度約為 5.2 mm，厚度約為 1.8 mm，此軟骨組織下緣已由空腔長入下方 PLGA/HAP 多孔隙結構體中，形成如體內軟骨與硬骨間之介面。第六(b)圖為以較高的倍率觀察軟骨組織內部，可以觀察到軟骨細胞已被包覆於軟骨細胞腔隙(lacunae)中，此新生軟骨的密度相當高，可以同源細胞分裂成長增生更多的軟骨組織。

第七圖為空腔下層多孔隙結構體培養四星期後的組織切片結果，可以觀察到材料內部已被增生的骨髓間葉細胞所填滿(如箭頭所示)，並沒有軟骨組織生成，顯示本發明之方法可將兩種不同的組織細胞，依材料的結構及組織細胞的體積差異分層培養，於活體外的環境重新建構不同層次的組織。

本發明設計之多層次多孔隙載體可以融合並放大培養多層次的組織，未來只要取出少量的自體軟骨，及抽取病患的骨髓，經本發明培養後即可得到大量的自體活體外培養之多層次組織，可作為多層次骨植入材用於移植手術中，以及解決大面積及深層關節軟骨的病變問題。



## 圖式簡單說明

第一圖係本發明之多層次多孔隙載體之示意圖。

第二(a)圖係本發明製備之多層次多孔隙載體外觀。

第二(b)圖係本發明製備之多層次多孔隙載體剖面圖。

第三圖係多層次多孔隙載體經組織培養方法培養四星期後取出時之外觀圖。

第四圖係以本發明之方法培養兩星期的空腔部位組織切片結果。

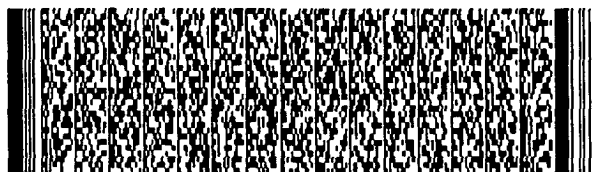
第五圖係將骨髓間葉細胞植入載體空腔下層之均勻 PLGA/HAP 的多孔隙結構體，培養二星期後的組織切片結果。

第六(a)圖係以本發明之方法培養四星期的組織切片結果。  
200x)。

第七圖係載體之空腔下層多孔隙結構體培養四星期後的組織切片結果。

### 【元件符號說明】

- 1 --- 多層次多孔隙載體
- 2 --- 中空空腔
- 3 --- 多孔隙基材
- 4 --- 多孔隙結構體



## 六、申請專利範圍

1. 一種活體外培養多層次組織之方法，至少包括下述步驟：

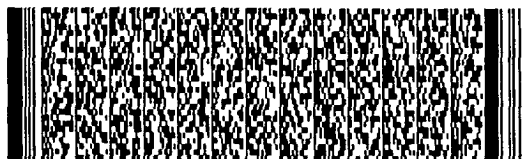
提供一具有空腔之多層次多孔隙載體；

將組織塊置入前述載體的空腔中；

植入細胞到前述載體中；及

將含有組織塊與細胞之多層次多孔隙載體置於培養基中培養。

2. 如申請專利範圍第1項所述之方法，其中前述之組織塊之粒徑係大於載體空腔外圍基材之孔徑。
3. 如申請專利範圍之第1項所述之方法，其中前述載體孔徑範圍係為50至500  $\mu\text{m}$ 。
4. 如申請專利範圍之第1項所述之方法，其中前述之組織塊的粒徑係為500至1000  $\mu\text{m}$ 。
5. 如申請專利範圍之第1項所述之方法，其中前述之組織塊亦可為具有細胞貼附之顆粒性載體，或細胞之聚集體。
6. 如申請專利範圍之第1項所述之方法，其中前述之多層次多孔隙載體之材質係為生物可吸收性材質。
7. 如申請專利範圍之第6項所述之方法，其中前述之生物可吸收性材質，其係可選自下述可吸收性高分子材料之群組：聚交酯酸、聚乳酸交酯酸、聚乳酸甘醇酸、聚酐、聚己內酯、聚二噁酯及聚正酯。
8. 如申請專利範圍之第1項所述方法，其中前述之載體，係可使用結合前述可吸收性高分子材料與其他材料之複



## 六、申請專利範圍

合材料。

9. 如申請專利範圍之第8項所述之方法，其中前述其他材料係可選自下述群組：氫氧基磷灰石、三鈣磷酸鹽、四鈣磷酸鹽、無水磷酸氫鈣、含水磷酸氫鈣、八鈣磷酸鹽、焦磷酸鈣、膠原蛋白、明膠、透明質酸、幾丁質、聚乙二醇。
10. 一種多層次多孔隙載體，其構造至少包括：  
一 中空空腔，其四周包覆多孔隙基材，係作於填入組織塊之用；及  
一 多孔隙結構體，其位於中空空腔下方，係提供細胞貼附之用。
11. 如申請專利範圍之第10項所述之多層次多孔隙載體，其組織塊粒徑較佳係為500至1000  $\mu\text{m}$ 。
12. 如申請專利範圍之第10項所述之多層次多孔隙載體，其中前述載體孔徑範圍較佳係為50至500  $\mu\text{m}$ 。
13. 如申請專利範圍之第10項所述之多層次多孔隙載體，其材質係為生物可吸收性材質。
14. 如申請專利範圍之第13項所述之多層次多孔隙載體，其中前述之生物可吸收性材質，其係可選自下述可吸收性高分子材料之群組：聚交酯酸、聚乳酸交酯酸、聚乳酸甘醇酸、聚酐、聚己內酯、聚二噁酯及聚正酯。
15. 如申請專利範圍之第13項所述之多層次多孔隙載體，其中前述之生物可吸收性材質係可使用結合前述可吸收性高分子材料與其他材料之複合材料。

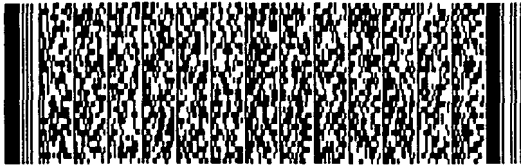


六、申請專利範圍

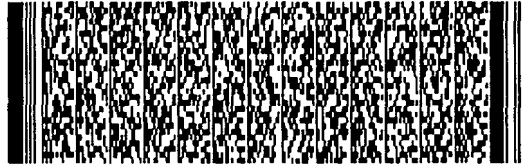
16. 如申請專利範圍之第15項所述之多層次多孔隙載體，其中前述之其他材料係可選自下述群組：氫氧基磷灰石、三鈣磷酸鹽、四鈣磷酸鹽、無水磷酸氫鈣、含水磷酸氫鈣、八鈣磷酸鹽、焦磷酸鈣、膠原蛋白、明膠、透明質酸、幾丁質、聚乙二醇。
17. 一種多層次植入材，係利用如前述申請專利範圍第1項所述之方法製成。
18. 如申請專利範圍第17項所述之多層次植入材，其中前述植入材較佳係為骨組織植入材。



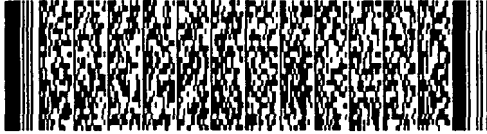
第 1/20 頁



第 1/20 頁



第 2/20 頁



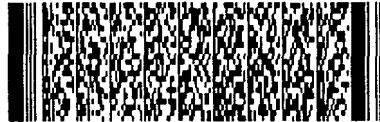
第 3/20 頁



第 3/20 頁



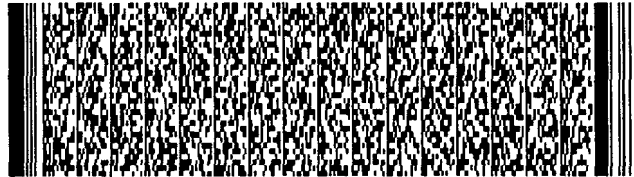
第 4/20 頁



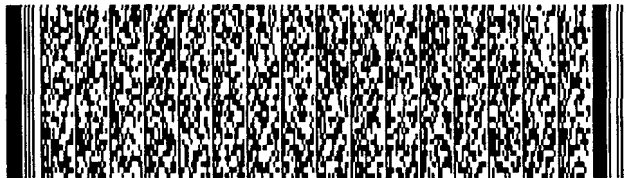
第 5/20 頁



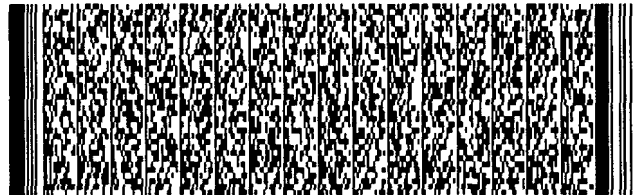
第 6/20 頁



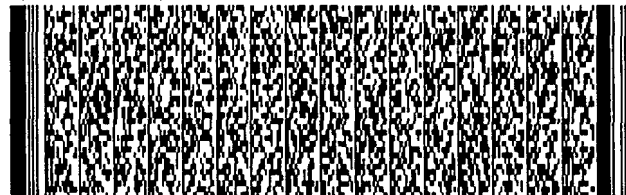
第 6/20 頁



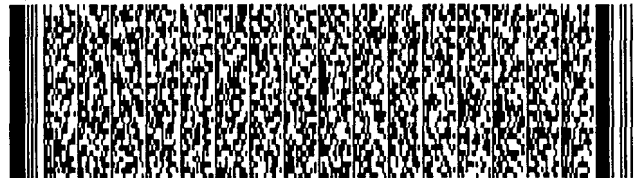
第 7/20 頁



第 7/20 頁



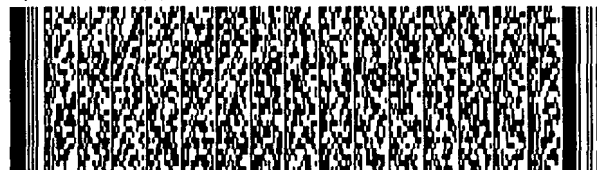
第 8/20 頁



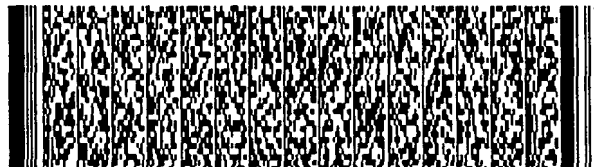
第 8/20 頁



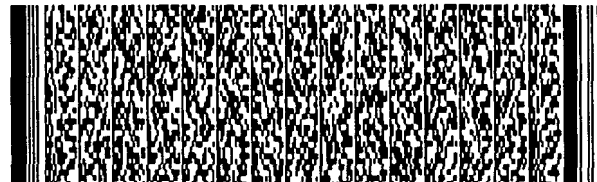
第 9/20 頁



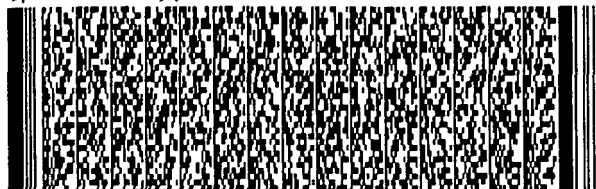
第 9/20 頁



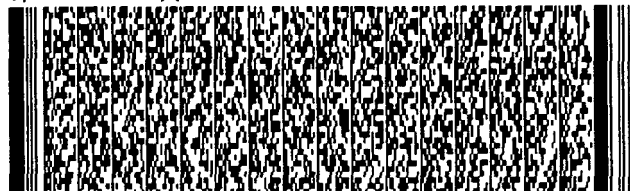
第 10/20 頁



第 10/20 頁



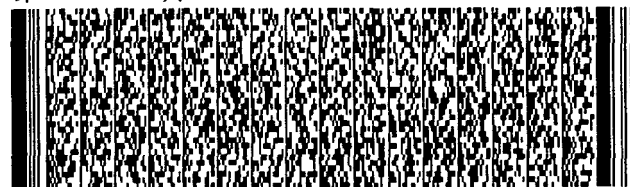
第 11/20 頁



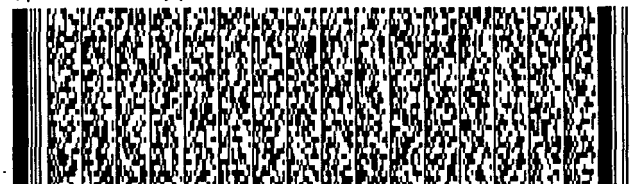
第 12/20 頁



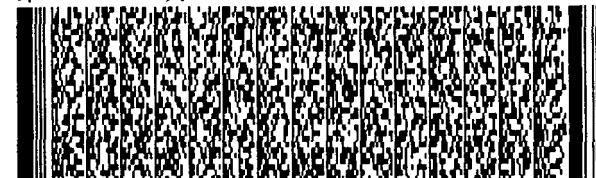
第 13/20 頁



第 14/20 頁



第 15/20 頁



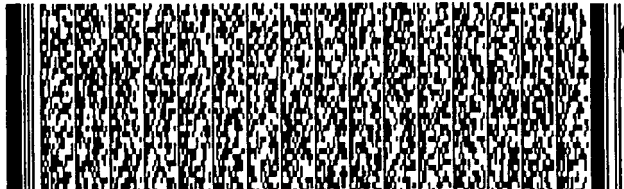
第 16/20 頁



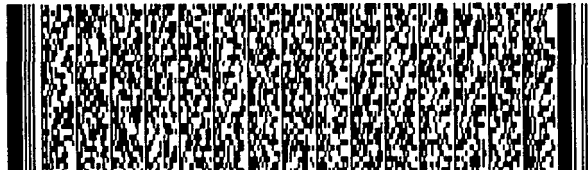
第 18/20 頁



第 11/20 頁



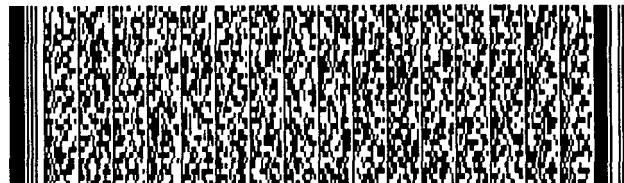
第 12/20 頁



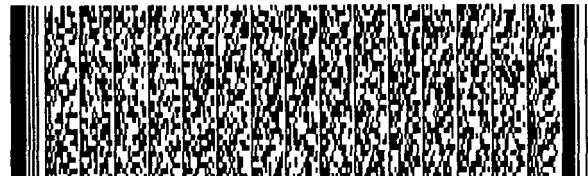
第 13/20 頁



第 14/20 頁



第 15/20 頁



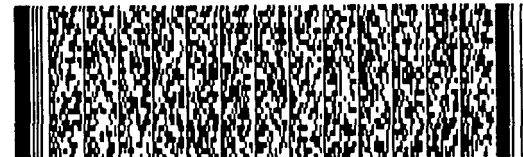
第 16/20 頁



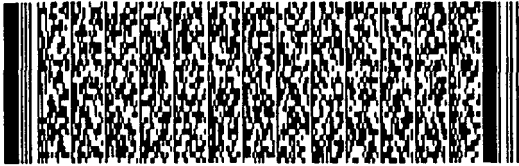
第 17/20 頁



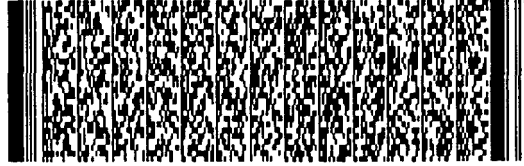
第 18/20 頁



第 19/20 頁



第 19/20 頁



第 20/20 頁

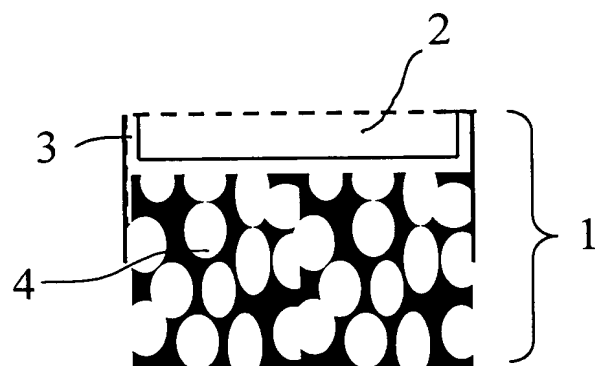




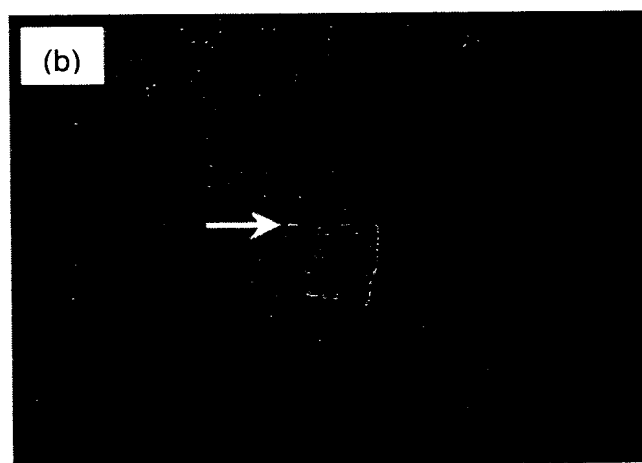
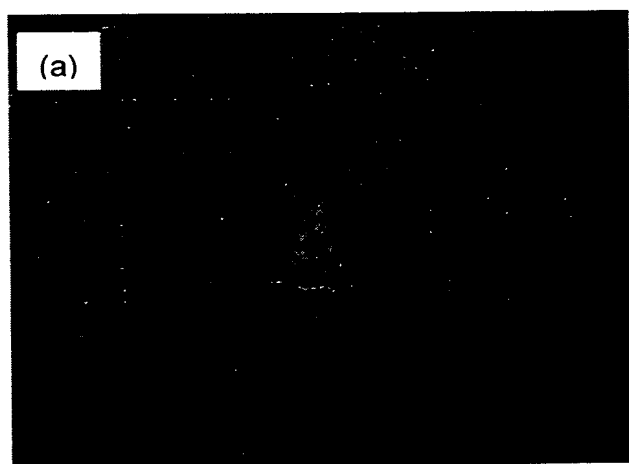
# 中文造字申請單

專利名稱：多層次組織培養方法及其載體

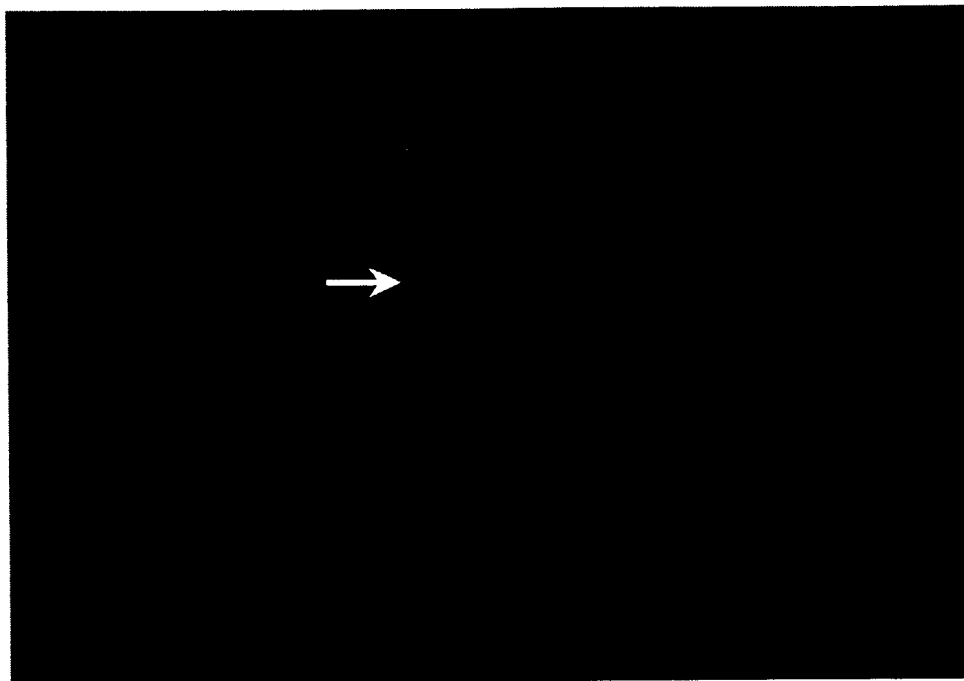
[illegible]



第一圖



第二圖



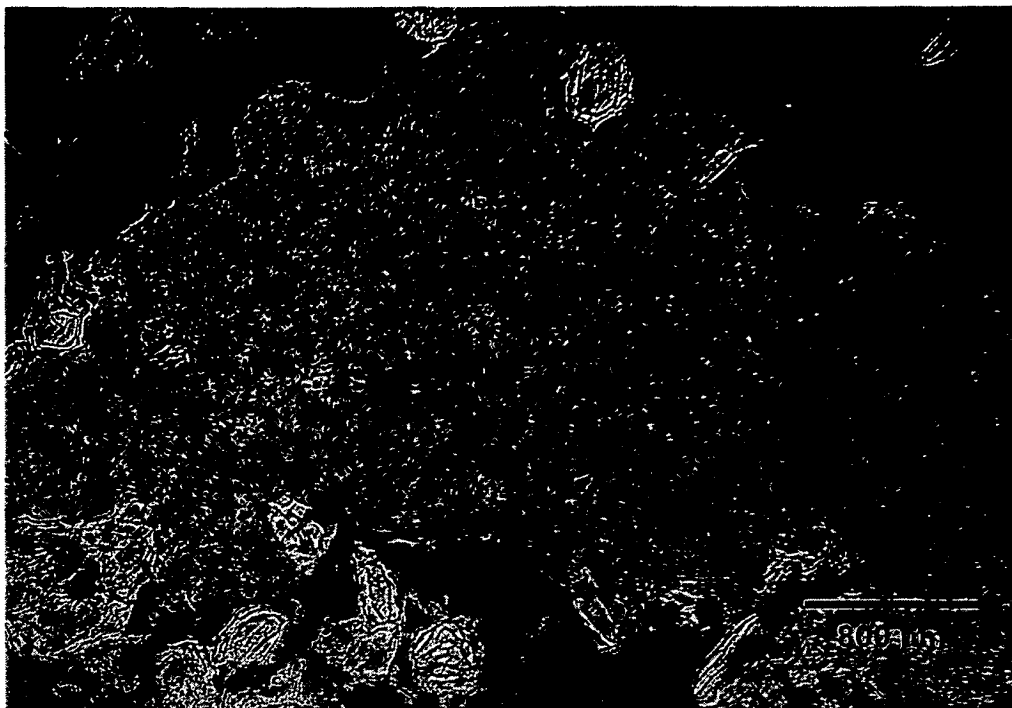
第三圖



第四圖



第五圖



第六(a)圖



第六(b)圖



第七圖